

PHQ99015
LIS.



Europäisches
Patentamt

Eur pean
Patent Office

Office eur péen
des brevets



Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterla-
gen stimmen mit der
ursprünglich eingereichten
Fassung der auf dem näch-
sten Blatt bezeichneten
europäischen Patentanmel-
dung überein.

The attached documents
are exact copies of the
European patent application
described on the following
page, as originally filed.

Les documents fixés à
cette attestation sont
conformes à la version
initialement déposée de
la demande de brevet
européen spécifiée à la
page suivante.

Patentanmeldung Nr. Patent application No. Demande de brevet n°

99204402.4

Der Präsident des Europäischen Patentamts:
Im Auftrag

For the President of the European Patent Office

Le Président de l'Office européen des brevets
p.o.

I.L.C. HATTEN-HECKMAN

DEN HAAG, DEN
THE HAGUE,
LA HAYE, LE

06/06/00



**Eur päisches
Patentamt**

**Eur pean
Patent Office**

**Office eur péen
des brevets**

**Blatt 2 der Bescheinigung
Sheet 2 of the certificate
Page 2 de l'attestation**

Anmeldung Nr.:
Application no.: 99204402.4
Demande n°:

Anmeldetag:
Date of filing: 20/12/99
Date de dépôt:

Anmelder:
Applicant(s):
Demandeur(s):
Philips Electron Optics B.V.
5651 GG Eindhoven
NETHERLANDS

Bezeichnung der Erfindung:
Title of the invention:
Titre de l'invention:
NO TITLE

In Anspruch genommene Priorität(en) / Priority(ies) claimed / Priorité(s) revendiquée(s)

Staat:
State:
Pays:

Tag:
Date:
Date:

Aktenzeichen:
File no.
Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation:
International Patent classification:
Classification internationale des brevets:

/

Am Anmeldetag benannte Vertragsstaaten:
Contracting states designated at date of filing: AT/BE/CH/CY/DE/DK/ES/FI/FR/GB/GR/IE/IT/LI/LU/MC/NL/PT/SE
Etats contractants désignés lors du dépôt:

Bemerkungen:
Remarks:
Remarques:

See for original title of the application
page 1 of the description.

Röntgenmicroscopie met een röntgenbron voor zachte röntgenstraling.

- De uitvinding betreft een röntgenmicroscopie voorzien van een inrichting voor het opwekken van röntgenstraling, welke inrichting is voorzien van:
- * middelen voor het voortbrengen van een vloeistofstraal,
 - * middelen voor het voortbrengen van een gefocusseerde stralingsbundel waarvan
- 5 het focus op de vloeistofstraal ligt.

Uit de gepubliceerde octrooi-aanvraag WO 97/40650 (PCT/SE97/00697) is een inrichting voor het opwekken van zachte röntgenstraling bekend. In deze bekende inrichting

10 worden de middelen voor het voortbrengen van een vloeistofstraal gevormd door een spuitmond ("nozzle"), waaruit een vloeistof zoals water onder hoge druk naar buiten spuit. De middelen voor het voortbrengen van een gefocusseerde stralingsbundel worden gevormd door een combinatie van een pulserende laser en een focusserende lens, die de door de laser voortgebrachte pulserende stralingsbundel zodanig focusseert dat het focus op de

15 vloeistofstraal ligt. Door de hoge vermogensdichtheid van de laserpulsen ontstaat daarbij in de vloeistofstraal een door het laserlicht geïnduceerd plasma waardoor de genoemde zachte röntgenstraling wordt opgewekt. In de genoemde octrooi-aanvraag wordt beschreven dat deze röntgenstraling, i.h.b. die met een golflengte van 2,3-4,4 nm, kan worden gebruikt voor röntgenmicroscopie.

20 Het opwekken van röntgenstraling met gepulste laser plasma emissie heeft een aantal nadelen.

Een eerste nadeel wordt daardoor gevormd dat de laser in pulserende toestand bedreven moet worden om een voldoende hoge vermogensdichtheid van de laser te krijgen. In de genoemde octrooi-aanvraag wordt een vermogensdichtheid van 10^{13} - 10^{15} W/cm² genoemd;

25 als men dit vermogen met een laser in continu bedrijf wil opwekken zou dit een extreem grote laser vereisen. Het gevolg is dat men met deze bekende röntgenbron slechts röntgenstraling met een pulserend karakter krijgt.

Een ander nadeel van laser-geïnduceerde plasma emissie wordt gevormd door het verschijnsel dat zich in de omgeving van de plaats waar de röntgenstraling gevormd wordt

(de "röntgenspot") veel deeltjes (moleculen, radicalen, al dan niet geïoniseerde atomen) bevinden die veelal een hoge kinetische energie hebben en chemisch zeer reactief kunnen zijn.

De vorming van deze deeltjes kan verklaard worden door het verschijnsel dat bij energietoevoer aan het target (dus de vloeistofstraal) met laserlicht, bij toenemende intensiteit

- 5 eerst de elektronen van de buitenschil van het targetmateriaal geïoniseerd worden en daarna pas de elektronen van de binnenschillen, die de röntgenstraling teweegbrengen, geëxciteerd worden. De genoemde daarbij gevormde deeltjes kunnen het met de röntgenmicroscop te onderzoeken preparaat beschadigen. Om deze beschadiging te verminderen of te voorkomen is het denkbaar om een optisch tussenelement (b.v. een condensorlens in de vorm van een
- 10 Fresnel zoneplaat) tussen de fysieke röntgenspot en de eigenlijk gewenste plaats van de röntgenspot aan te brengen, om zodoende een grote afstand tussen de röntgenspot en het preparaat te vormen zonder daardoor de afbeeldingseigenschappen van de röntgenmicroscop ingrijpend te beïnvloeden. Doordat condensorlenzen in het röntgengebied weinig efficiënt zijn gaat op deze wijze echter een aanzienlijk deel van het opgewekte röntgenvermogen voor
- 15 afbeelding in de röntgenmicroscop verloren. Daarnaast zijn sommige andere soorten condensoren(b.v. multilaagspiegels of spiegels voor scherende inval, "grazing incidence mirrors") zeer gevoelig voor beschadiging door de genoemde hoog-energetische deeltjes.

- 20 De uitvinding beoogt een de genoemde nadelen te vermijden door een röntgenbron te verschaffen voor relatief zachte röntgenstraling die continu bedreven kan worden en waarbij niet of nauwelijks schadelijke deeltjes in het röntgentarget worden gevormd. Deze doelstelling wordt overeenkomstig de uitvinding daardoor bereikt dat de gefocusseerde stralingsbundel bestaat uit een bundel van elektrisch geladen deeltjes. Door de
- 25 vloeistofstraal te bestralen met de genoemde deeltjes worden de bovengenoemde nadelen vermeden. Door de veel kleinere golflengte van die deeltjes wordt bovendien het voordeel bereikt dat het met deze deeltjes gevormde focus veel kleiner gemaakt kan worden dan het focus van de bundel van laserlicht. Een met de uitvinding bereikt additioneel voordeel is nog dat, door de versnelspanning van de elektrisch geladen deeltjes te variëren de energie daarvan
- 30 continu regelbaar is over een groot gebied; deze regeling vindt plaats door de versnelspanning van deze deeltjes te variëren.

In een voorkeursuitvoering van de uitvinding wordt de bundel van elektrisch geladen deeltjes gevormd door een elektronenbundel. Deze uitvoering heeft het voordeel dat daarbij van bestaande toestellen, zoals een scannende elektronenmicroscop, gebruik gemaakt

kan worden. Deze toestellen zijn in het bijzonder ingericht voor het verkrijgen van een zeer klein elektronenfocust, tot een diameter van enkele nanometers.

In een andere uitvoering van de uitvinding heeft de dwarsdoorsnede van de vloeistofstraal in de richting van de gefocusseerde bundel een afmeting die kleiner is dan in de richting dwars daarop. Deze uitvoering is van belang in die gevallen waar de deeltjesbundel een grotere breedte heeft dan ongeveer de indringdiepte in de vloeistofstraal. Zou men nu een vloeistofstraal met een cirkelvormige dwarsdoorsnede gebruiken, dan zou de in een relatief dun gebied aan de oppervlakte van de straal opgewekte röntgenstraling weer in het binnenste van die vloeistofstraal geabsorbeerd worden, waardoor nuttige opbrengst van de röntgenstraling verloren zou gaan. Dit nadelige effect wordt sterk verminderd of geheel vermeden bij gebruik van een afgeplatte vloeistofstraal.

In een weer andere uitvoering van de uitvinding bestaat de vloeistofstraal hoofdzakelijk uit vloeibare zuurstof of stikstof. Naast het voordeel dat een vloeistofstraal van een vloeibaar gemaakt gas uitstekende koelende eigenschappen heeft en dus thermisch zwaar belast kan worden, vertoont zo'n vloeistofstraal ook een hoge mate van spectrale zuiverheid, in het bijzonder in het gebied van zachte röntgenstraling in het zogeheten water window (golflengte $\lambda=2.3-4.4$ nm). Dit golflengtegebied is zeer geschikt voor het onderzoek van biologische preparaten met een röntgenmicroscop, omdat in dat gebied het absorptiecontrast tussen water en koolstof maximaal is.

In een nog weer andere uitvoering van de uitvinding worden de middelen voor het voortbrengen van een gefocusseerde bundel van elektrisch geladen deeltjes gevormd door een standaard-elektronenkanon voor een kathodestraalbuis, en is de röntgenmicroscop verder voorzien van een condensorlens aangebracht tussen de vloeistofstraal en het met de röntgenmicroscop af te beelden object. Een eerste voordeel van de toepassing van een standaard-elektronenkanon voor een kathodestraalbuis in de uitvinding ligt daarin dat deze elementen reeds in massa worden vervaardigd en gedurende vele jaren hun deugdelijkheid hebben bewezen. Een verder voordeel ligt daarin dat zulke elektronenbronnen een relatief hoge stroom kunnen leveren (in de orde van grootte van 1 mA). De elektronenspot heeft echter een afmeting in de orde van grootte van 50 μm hetgeen in dezelfde orde ligt als de afmetingen van het af te beelden object, zodat in dat geval een condensorlens nodig is, die de van de röntgenvlek afkomstige straling op het preparaat concentreert. Hoewel daarbij door het gebruik van de condensor röntgenintensiteit verloren gaat is de stroom in de elektronenbundel zo groot dat dit verlies daardoor ruimschoots gecompenseerd wordt.

Het is voordelig om gebruik te maken van de eigenschappen die een bestaande elektronenmicroscop voor het uitvoeren van de uitvinding kan bieden. Een elektronenmicroscop brengt een gefocusseerde elektronenbundel voort, en kan voorzien zijn van een inrichting voor het opwekken van röntgenstraling, die overeenkomstig de uitvinding daardoor gekenmerkt kan worden dat deze is voorzien van middelen voor het voortbrengen van een vloeistofstraal, en middelen voor het richten van het focus van de elektronenbundel op de vloeistofstraal. Men kan daarbij een röntgenmicroscop in de elektronenmicroscop inbouwen, waarbij de inrichting voor het opwekken van röntgenstraling als röntgenbron voor de röntgenmicroscop fungeert. In het bijzonder is een scannende elektronenmicroscop geschikt voor toepassing van de onderhavige uitvinding omdat zo'n microscop gemakkelijk bedreven kan worden met versnellschommelingen van de elektronenbundel in de orde van grootte van 1-10 kV, welke waarden overeenkomen met die welke nodig zijn voor het opwekken van zachte röntgenstraling in het water window.

15

De uitvinding zal worden beschreven aan de hand van de figuren, waarbij overeenkomstige elementen aangeduid worden met dezelfde verwijzingscijfers. Daarbij toont:

Figuur 1 : een schematische weergave van enkele configuraties van een elektronenbundel met een vloeistofstraal, voor onderlinge vergelijking;

20

Figuur 2 : een schematische weergave van de stralengang in een transmissie-röntgenmicroscop volgens de uitvinding;

Figuur 3 : een schematische weergave van de stralengang in een scannende transmissie-röntgenmicroscop volgens de uitvinding;

25

Figuur 4 : een schematische weergave van de stralengang in een transmissie-röntgenmicroscop voorzien van een standaard-elektronenkanon voor een kathodestraalbuis, volgens de uitvinding.

30

In de figuren 1a-1c is ter onderlinge vergelijking een aantal configuraties weergegeven waarin een loodrecht op het vlak van tekening gedachte vloeistofstraal wordt bestraald met een elektronenbundel. In figuur 1a is deze bundel afkomstig van een spotvormend objectief van een Scannende Elektronen Microscop (SEM), in de figuren 1b en 1c is deze elektronenbundel afkomstig van een standaard-elektronenkanon voor een kathodestraalbuis (CRT gun).

In figuur 1a heeft de vloeistofstraal 2, b.v. een waterstraal, een diameter van ongeveer 10 μm . De door het objectief 4 van de SEM op de vloeistofstraal gefocusseerde elektronenbundel 6 is onderworpen aan een versnelspanning van b.v. 10 kV en transporteert een stroom van b.v. 5 μA . In een gebied 8 wordt door een elektronenspot met een doorsnede van 1 μm een röntgenvlek met een afmeting van ongeveer 2 μm met zachte röntgenstraling opgewekt met een golflengte van $\lambda=2,4$ nm met een zwakke achtergrond van Bremsstrahlung. Het omringende water heft nog een monochromatiserend effect en zal de lijn met een golflengte van 2,4 nm goed doorlaten, maar de Bremsstrahlung met een hogere energie relatief sterk absorberen. Met de aldus verkregen zachte röntgenstraling kan nu een af te beelden object in een röntgenmicroscop belicht worden.

In figuur 1b wordt de vloeistofstraal 2 bestraald met een elektronenbundel 6 die afkomstig is van een (niet weergegeven) standaard CRT-gun. De vloeistofstraal 2 heeft in dit geval een elliptische doorsnede diameter met een hoogte van b.v. 20 μm en een breedte van b.v. 100 μm . De door de CRT-gun op de vloeistofstraal gefocusseerde elektronenbundel 6 produceert een elektronenvlek 8 met een doorsnede van ongeveer 50 μm . De elektronenbundel is onderworpen aan een versnelspanning van b.v. 30 kV en transporteert een stroom van b.v. 1 mA. Evenals in het geval van figuur 1a heeft het omringende water een monochromatiserend effect op de opgewekte zachte röntgenstraling.

Bij gebruik van een elliptische vloeistofstraal met de bovengenoemde (relatief grote) afmetingen van 20x100 μm bestaat de mogelijkheid dat het vacuümsysteem de door deze straal voortgebrachte damp niet voldoende kan afvoeren waardoor de druk in het systeem te hoog zou worden voor toepassing van een elektronenbron. In zulke gevallen kan men de configuratie van figuur 1c toepassen, waarin de vloeistofstraal 2 eveneens wordt bestraald met een elektronenbundel 6 die afkomstig is van een (niet weergegeven) standaard CRT-gun. De afmeting van de dwarsdoorsnede van de elektronenbundel is ook hier 50 μm , maar de vloeistofstraal 2 heeft in dit geval een cirkelvormige doorsnede in de orde van grootte van b.v. 10 μm . Het gevolg van deze configuratie is dat nu de röntgenvlek 10 een afmeting heeft die niet groter is dan de dwarsdoorsnede van de vloeistofstraal, in dit geval dus 10 μm .

Figuur 2 toont een schematische weergave van de stralengang in een transmissie-röntgenmicroscop volgens de uitvinding. In een transmissie-röntgenmicroscop wordt het beeld gevormd door het af te beelden object (het preparaat) min of meer gelijkmatig met röntgenstraling te verlichten en het aldus belichte object af te beelden met een projecterende objectieflens, hier in de vorm van een fresnel zoneplaat. Een fresnel zoneplaat is

een dispersief element. Daardoor zouden resolutie-beperkende afbeeldingsfouten ontstaan, hetgeen vanzelfsprekend ongewenst is. Hieruit vloeit de eis voort dat de verlichtende röntgenbron zo monochromatisch mogelijk moet zijn, aan welke eis door de röntgenbron volgens de uitvinding uitstekend voldaan wordt.

5 In de configuratie volgens figuur 2 wordt er van uit gegaan dat de röntgenbron wordt gevormd door een röntgenvlek 8 die door een van een SEM-systeem afkomstige elektronenbundel 6 wordt gevormd in een vloeistofstraal 2 waarvan de stroomrichting loodrecht op het vlak van tekening staat. In dit geval is de elektronenspot en dus de röntgenvlek (veel) kleiner dan de doorsnede van de vloeistofstraal. De van de röntgenvlek 8 afkomstige röntgenbundel 12 verlicht het met de röntgenmicroscop af te beelden object 14 min of meer gelijkmatig. Het object 14 bevindt zich op een afstand 26 van b.v. 150 μm van de röntgenvlek. Aan het object 14 wordt röntgenstraling verstrooid, zoals weergegeven door een deelbundel 16 van verstrooide röntgenstraling. Elk verlicht puntgebied van het object brengt zo'n deelbundel voort. De aldus gevormde deelbundels treffen het objectief 18, dat een
15 typische brandpuntsafstand van 1 mm heeft en een typische diameter van 100 μm . Het objectief dat het betreffende punt via deelbundel 20 afbeeldt op het beeldvlak 22. Indien daarbij de voorwerpsafstand 28 gelijk is aan 1,001 mm en de beeldafstand gelijk is aan 1000 mm, is met de gegeven brandpuntsafstand van 1 mm de vergroting 1000x. Om te voorkomen dat de door het object 14 heen stralende röntgenvlek 8 zelf afgebeeld wordt door
20 objectief 18 in de ruimte tussen het objectief en het beeldvlak 22 en aldus de gewenste afbeelding in het beeldvlak zou overstralen, is in het midden van het objectief een röntgenabsorberende afschermplaat 24 geplaatst.

In het beeldvlak 22 is een detector geplaatst die gevoelig is voor de röntgenstraling van de betreffende golflengte. Hiervoor kan een röntgegevoelige CCD-camera gekozen worden waarvan het detector-oppervlak samenvalt met het beeldvlak 22. Een
25 voorbeeld van zo'n CCD-camera is een CCD-camera van het zogeheten "back illuminated" type zoals de camera met type-aanduiding NTE/CCD-1300 EB van de firma "Princeton Instruments", een onderdeel van "Roper Scientific".

Figuur 3 toont een schematische weergave van de stralengang in een scannende
30 transmissie-röntgenmicroscop volgens de uitvinding. In een scannende transmissie-röntgenmicroscop wordt het beeld gevormd door het af te beelden object volgens een gegeven aftastpatroon te scannen met een al dan niet verkleinde afbeelding van de röntgenvlek, en de aan het object verstrooide röntgenstraling te detecteren als functie van de door de afbeelding van de röntgenvlek aangestraalde plaats op het object. De afbeelding van

de röntgenvlek wordt daarbij verkregen door een objectieflens. Wanneer deze de vorm heeft van een fresnel zoneplaat bestaat hier ook de eis dat de verlichtende röntgenbron zo monochromatisch mogelijk moet is.

In de configuratie volgens figuur 3 wordt er weer van uit gegaan dat de röntgenbron wordt gevormd door een röntgenvlek 8 die door een van een SEM-systeem afkomstige elektronenbundel 6 wordt gevormd in een vloeistofstraal 2 waarvan de stroomrichting loodrecht op het vlak van tekening staat. De elektronenspot en dus de röntgenvlek is (veel) kleiner dan de doorsnede van de vloeistofstraal. De vloeistofstraal 2 is in dit geval in een richting loodrecht op de elektronenbundel veel breder dan in de richting van de elektronenbundel, b.v. 100 μm breed en 20 μm hoog. De elektronenbundel 6 wordt in de lengterichting 32a over de vloeistofstraal gescand, b.v met behulp van standaard in een SEM aanwezige scanspoelen. Daardoor beweegt de daardoor opgewekte röntgenvlek zich op dezelfde wijze. De door fresnel zoneplaat gevormde objectieflens 34 is zodanig geplaatst dat deze de in de vloeistofstraal gevormde röntgenvlek 8 afbeeldt op het object 14. Door de genoemde verplaatsing in de richting 32a van de röntgenvlek wordt de op het object gevormde afbeelding 36 daarvan eveneens verplaatst, en wel in de richting van de pijl 33b die door de lenswerking van het objectief 34 tegengesteld is aan richting 32a. De door het object verstrooide röntgenstraling 38 wordt weer gedetecteerd door detector 22, terwijl evenals in de configuratie volgens figuur 2 een röntgenabsorberende afschermplaat 24 in het objectief is geplaatst, om te voorkomen dat de röntgenvlek 8 in het zicht van de detector 22 komt.

Figuur 4 toont in schematische vorm de stralengang in een transmissie-röntgenmicroscoop, waarin de röntgenstraling opwekkende elektronenbron wordt gevormd door een (niet weergegeven) standaard-elektronenkanon voor een kathodestraalbuis, die een bundelstroom kan leveren in de orde van grootte van 1 mA. De configuratie volgens deze figuur 4 is in hoofdzaak gelijk aan die volgens figuur 2, met het reeds genoemde verschil van de elektronenbron en de aanwezigheid in figuur 4 van een condensorlens 40. Doordat de röntgenspot 8 in deze configuratie een afmeting heeft die in dezelfde orde van grootte kan liggen als het object 14 (b.v. 50 tot 100 μm), is voorzien in de condensorlens 40 in de vorm van een fresnel zoneplaat 40. De röntgenvlek 8 wordt door deze condensorlens 40 verkleind afgebeeld op het object 14, waarna de gehele beeldvorming verder verloopt als reeds beschreven aan de hand van figuur 2.

CONCLUSIES:

20 12 1999

(63)

1. Röntgenmicroscop voorzien van een inrichting voor het opwekken van röntgenstraling, welke inrichting is voorzien van:

- * middelen voor het voortbrengen van een vloeistofstraal (2),
- * middelen voor het voortbrengen van een gefocusseerde stralingsbundel waarvan

5 het focus op de vloeistofstraal ligt,

met het kenmerk

dat de gefocusseerde stralingsbundel bestaat uit een bundel (6) van elektrisch geladen deeltjes.

2. Röntgenmicroscop volgens conclusie 1 waarin de bundel van elektrisch

10 geladen deeltjes wordt gevormd door een elektronenbundel.

3. Röntgenmicroscop volgens conclusie 1 waarin de dwarsdoorsnede van de vloeistofstraal (2) in de richting van de gefocusseerde bundel een afmeting heeft die kleiner is dan in de richting dwars daarop.

15

4. Röntgenmicroscop volgens conclusie 1 waarin de vloeistofstraal hoofdzakelijk uit vloeibare zuurstof of stikstof bestaat.

5. Röntgenmicroscop volgens conclusie 1 waarin de middelen voor het

20 voortbrengen van een gefocusseerde bundel van elektrisch geladen deeltjes worden gevormd door een standaard-elektronenkanon voor een kathodestraalbuis, en waarin de röntgenmicroscop verder voorzien is van een condensorlens (40) aangebracht tussen de vloeistofstraal (2) en het met de röntgenmicroscop af te beelden object (14).

25 6. Elektronenmicroscop die een gefocusseerde elektronenbundel (6) voortbrengt, en voorzien van een inrichting voor het opwekken van röntgenstraling,

met het kenmerk dat de inrichting is voorzien van:

- * middelen voor het voortbrengen van een vloeistofstraal (2),

* middelen voor het richten van het focus van de elektronenbundel (6) op de
vloeistofstraal.

7. Elektronenmicroscop volgens conclusie 6 voorzien van een röntgen-

5 microscoop, waarin de inrichting voor het opwekken van röntgenstraling als röntgenbron voor
de röntgenmicroscop fungeert.

8. Elektronenmicroscop volgens conclusie 6 of 7 waarin de elektronen-
microscop een scannende elektronenmicroscop is.

ABSTRACT:

Soft X-rays are very suitable for examining biological samples with an X-ray microscope. It is known to generate such soft X-rays with a laser excited plasma in a fluid jet. According to the invention the X-rays are generated by focusing an electron beam 6 on a fluid jet 2, thus obtaining a very small electron focus on the jet and thus a very small
5 monochromatic X-ray spot 8. The electron spot 8 may be obtained by means of a standard electron microscope (an SEM) or by means of a standard electron gun for a cathode ray tube (a CRT gun). The imaging optical elements 18,34,40 in the X-ray microscope may be fresnel zone plates.

10 Figure 3.

1/4

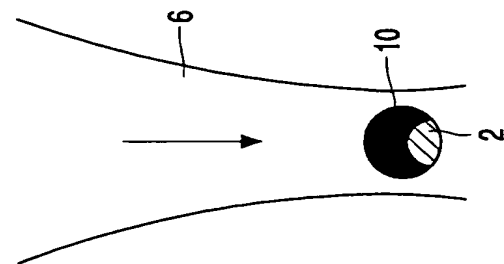


FIG. 1c

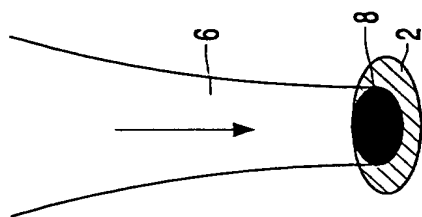


FIG. 1b

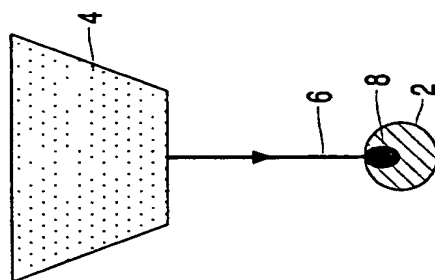


FIG. 1a

3/4

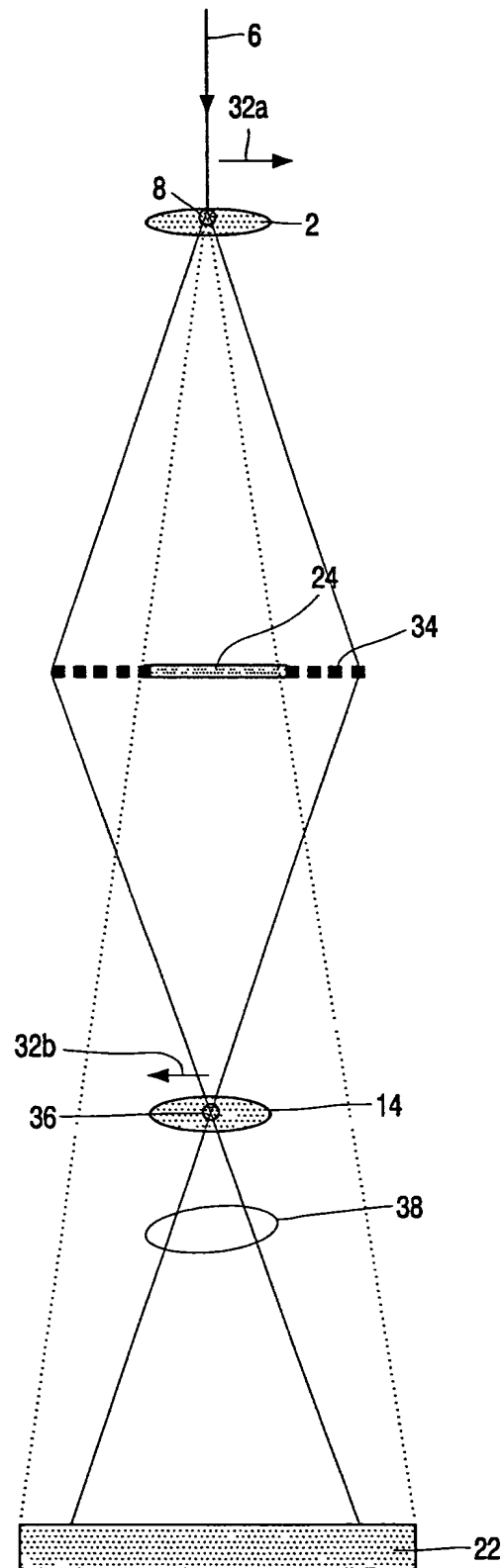


FIG. 3

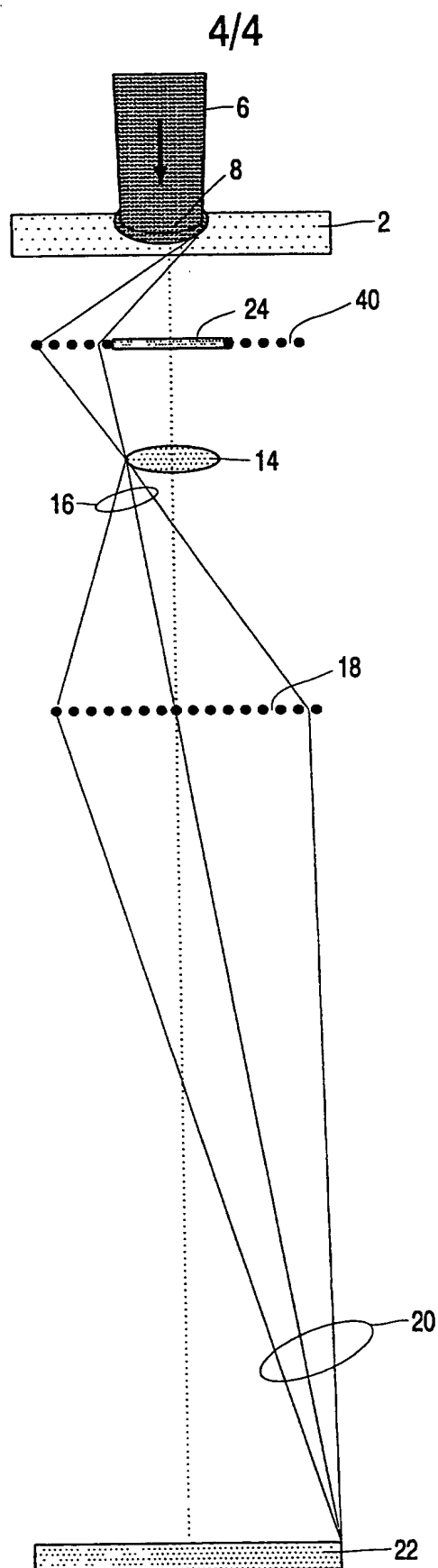


FIG. 4